Revue suisse Zool.	Tome 90	Fasc. 2	p. 407-415	Genève, juin 1983

Analyse cytologique et biochimique des Crocidures de l'Ile de Chypre (Mammalia, Insectivora)

par

F. CATZEFLIS *

Avec 2 figures

Abstract

Cytological and biochemical analysis of Crocidura **shrews from the island of Cyprus (Mammalia, Insectivora).** — Shrews of the genus *Crocidura* from the island of Cyprus were analysed cytologically and biochemically. The karyotype of all the animals studied is 2N = 40 with a fundamental number NF = 50, as also found in *C. suaveolens* from Italy and Switzerland. Biochemical variation at 28 genetic loci was expressed by Nei's genetic distance. This distance gives very high values, when calculated between the Cyprus populations and European samples of *C. russula* and *C. leucodon*: 0,445 and 0,325 respectively. The genetic distance with *C. suaveolens* is only 0,162; still, a value which has been observed between some other species of Soricidae. Therefore, we suggest to keep the designation *C. cypria* Bate, 1903 for the *Crocidura* from Cyprus, waiting for cytological and biochemical investigations in other populations of shrews from the Middle East.

En 1903, Bate proposait pour 3 individus du genre *Crocidura* de l'île de Chypre la dénomination *C. russula cypria*. Plus tard, dans leur révision des Mammifères paléarctiques, Ellerman & Morrison-Scott (1966) relèvent qu'aucun caractère (morphologique) ne permet de séparer spécifiquement la forme insulaire *cypria* et ils confirment le statut subspécifique de ces animaux.

Richter (1970) prétend que *C. russula* (Hermann, 1780) représente une superespèce composée de 3 groupes de sous-espèces, *russula*, *suaveolens* et *gueldenstaedti*, cette dernière occupant le Sud-Est méditerranéen et les îles de Corse, Crête et Chypre.

* Institut de Zoologie et d'Ecologie animale, place du Tunnel 19, CH-1005 Lausanne, Suisse.

Sur la base d'un matériel plus important (24 individus capturés), SPITZENBERGER (1978) élève au rang spécifique *C. cypria* Bate, 1903, tout en précisant que cette forme appartient au groupe proche-oriental *C. russula gueldenstaedti-C. suaveolens*.

Enfin, CORBET (1978) revient à la dénomination *C. russula cypria* Bate, 1904, tout en remarquant que la taxonomie des formes paléarctiques du genre *Crocidura* ne peut pas encore être considérée comme définitive au niveau spécifique. D'autre part, VESMANIS & VESMANIS (1980) relèvent que, au point de vue de la position du protocone P^4 les *C. cypria* sont très proches de *C. suaveolens*. Ces mêmes auteurs (VESMANIS & VESMANIS 1982) concluent après l'examen du type qu'on ne peut attribuer la forme *cypria* à un taxon connu, comme l'identité de *C. r. gueldenstaedti* n'est pas clarifiée.

Tous ces précédents travaux étant basés sur des analyses morphologiques, certaines relevant d'ailleurs la grande variabilité des Crocidures de Chypre (SPITZENBERGER 1978; VESMANIS & VESMANIS 1980), il s'avérait dès lors intéressant de conduire une analyse cytologique et biochimique sur des animaux de cette île, afin de préciser le statut de ces populations et d'esquisser, par comparaison, leurs relations de parenté avec les autres espèces d'Europe continentale, soit *C. russula*, *C. suaveolens* et *C. leucodon*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

En septembre 1981, 25 Crocidures ont été capturés à Chypre, soit 5 individus à Ayios Theodoros (altitude 3 m, Larnaca), 15 à Prodhromos (1420 m, massif du Troodhos) et 5 à Laxia (190 m, Nicosie). Une partie de ces animaux ont été fixés sur le terrain pour analyse chromosomique et les organes — foie, reins et cœur — de tous les individus capturés vivants ont été congelés en azote liquide aux fins d'analyse biochimique. L'ensemble de ces animaux est déposé à l'Institut de Zoologie et d'Ecologie animale de l'Université de Lausanne sous forme de corps en alcool ou de peaux et crânes.

TABLEAU 1.

Origine et effectif des animaux étudiés.
Les populations des espèces C. leucodon, C. russula *et* C. suaveolens *sont celles analysées par* CATZEFLIS *(sous presse)*.

Espèce	Population	Individus analysés	Origine
C. leucodon	Cle-1	5	Réchy, Suisse
	Cle-2	6	Serramazzoni, Italie
C. russula	Cru-1	20	Morges, Suisse
	Cru-2	5	Sardaigne, Italie
C. suaveolens	Csu-1	5	Fivizzano, Italie
	Csu-2	6	Serramazzoni, Italie
	Csu-3	3	Potok, Yougoslavie
C. cf. cypria	Ccy-1	5	Laxia, Chypre
	Ccy-2	8	Prodhromos, Chypre

Les caryotypes ont été préparés sur le terrain par la technique du « squash » (MEYLAN 1967), et un minimum de 10 cinèses métaphasiques a été examiné chez chaque animal fixé.

Les électrophorèses verticales sur gel d'amidon, la séparation et la détection des protéines ont été réalisées selon les méthodes décrites précédemment (CATZEFLIS *et al.* 1982). L'analyse a porté sur deux populations: une de 5 animaux de Laxia et une autre de 8 originaires de Prodhromos. Les différents électromorphes observés, codés par 28 loci génétiques ont été comparés à ceux de 7 populations témoins (tableau 1) des espèces C. suaveolens, C. russula et C. leucodon (CATZEFLIS, sous presse).

RÉSULTATS

ANALYSE CHROMOSOMIQUE

Tous les individus analysés, tant des plaines (Ayios Theodoros et Laxia) que du massif montagneux (Prodhromos) montrent un caryotype semblable, 2N = 40 et NF = 50 (figure 1). A une grande paire de submétacentriques succèdent trois paires de chromosomes méta- à subméta-centriques; on observe ensuite 15 paires d'autosomes acrocentriques de longueur régulièrement décroissante. Hétérochromosomes: le X est un grand métacentrique, l'Y, difficile à mettre en évidence sans ambiguïté, a été attribué arbitrairement au plus petit des acrocentriques.

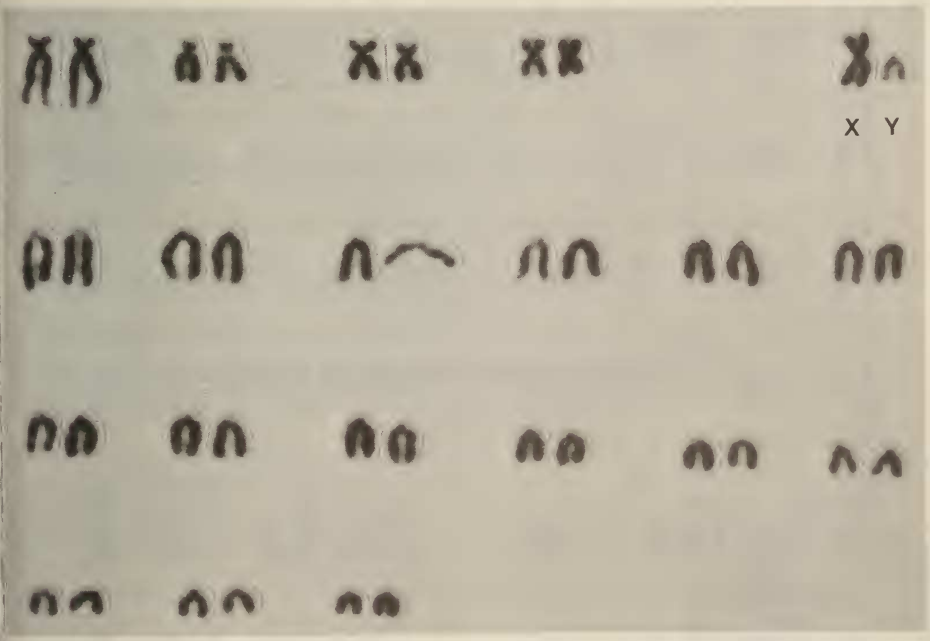

FIG. 1.

Caryogramme d'un mâle de *Crocidura* originaire de Prodhromos, Chypre.

TABLEAU 2.

Fréquences alléliques observées aux 18 loci polymorphes chez les 2 populations analysées (Ccy-1 et Ccy-2) et parmi les 7 populations de référence (CATZEFLIS, *sous presse*).

Espèce (population) Nbre de génomes		Allèle	Cle-1 10	Cle-2 12	Cru-1 40	Cru-2 10	Csu-1 10	Csu-2 12	Csu-3 6	Ccy-1 10	Ccy-2 16
Locus	Enzyme										
Adh 1	ADH	− 79	—	—	—	—	—	—	—	0,40	—
		− 71	—	—	—	—	—	—	—	0,60	1,00
		− 65	—	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	—	—
		− 50	1,00	—	—	—	—	—	—	—	—
Ak 1	AK	− 82	—	—	—	0,40	—	—	—	—	—
		− 68	—	—	1,00	0,60	—	—	—	—	—
		− 59	—	—	—	—	—	—	—	0,20	—
		− 39	—	—	—	—	—	—	—	0,10	0,12
		− 36	—	—	—	—	1,00	1,00	1,00	0,70	0,88
		− 13	1,00	1,00	—	—	—	—	—	—	—
Est 1	EST-1	+100	—	—	1,00	1,00	—	—	—	—	—
		+ 92	1,00	1,00	—	—	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Est 2	EST-2	+ 97	—	—	1,00	1,00	—	—	—	—	—
		+ 87	1,00	0,58	—	—	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		+ 78	—	0,42	—	—	—	—	—	—	—
Fum 1	FUM	+100	—	—	0,65	—	—	—	—	—	—
		+ 78	—	—	0,29	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		+ 61	—	—	0,06	—	—	—	—	—	—
		+ 44	1,00	1,00	—	—	—	—	—	—	—
Gdh 1	GDH	+184	—	—	—	—	0,10	0,25	—	0,10	0,19
		+170	1,00	0,84	1,00	1,00	0,60	0,33	1,00	0,40	0,37
		+160	—	0,16	—	—	0,30	0,41	—	0,50	0,44
Got 1	GOT-S	+156	—	—	—	—	—	—	—	0,20	—
		+ 60	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,92	1,00	0,80	1,00
		− 50	—	—	—	—	—	0,08	—	—	—

Got 2	GOT-M	−100	1,00	1,00	1,00	0,60	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		− 93	—	—	—	0,40	—	—	—	—	—
α-Gpd 1	α-GPD	+150	—	—	1,00	1,00	—	—	—	—	—
		+100	1,00	1,00	—	—	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
G-6-pd 1	G-6-PD	+138	—	—	—	—	—	—	0,16	—	—
		+130	—	—	—	—	1,00	1,00	0,84	—	—
		+126	—	0,25	—	—	—	—	—	—	—
		+116	1,00	0,75	1,00	1,00	—	—	—	1,00	1,00
Ldh 1	LDH-B	+142	—	—	—	—	—	0,08	—	—	0,25
		+138	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,92	0,84	1,00	0,75
		+127	—	—	—	—	—	—	0,16	—	—
Mod 1	MOD	−124	—	1,00	—	—	—	—	—	—	—
		−113	1,00	—	1,00	0,60	—	—	—	—	—
		−100	—	—	—	0,40	—	—	—	—	0,25
		−106	—	—	—	—	—	—	—	1,00	0,75
		− 89	—	—	—	—	1,00	1,00	0,84	—	—
		− 70	—	—	—	—	—	—	0,16	—	—
Mpi 1	MPI	+206	—	—	—	—	1,00	1,00	1,00	—	—
		+173	1,00	1,00	—	0,80	—	—	—	1,00	1,00
		+144	—	—	1,00	0,20	—	—	—	—	—
Pa 1	PA	+646	—	—	—	—	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		+596	1,00	1,00	—	—	—	—	—	—	—
		+520	—	—	1,00	1,00	—	—	—	—	—
6-Pgd	6-PGD	+ 59	—	—	1,00	1,00	0,10	—	—	—	—
		+ 42	1,00	1,00	—	—	0,90	1,00	1,00	1,00	1,00
Pgi 1	PGI	−100	—	—	—	—	—	—	—	0,20	—
		− 77	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,80	1,00
Prot 2	PROT-2	− 86	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,84	1,00	1,00	1,00
		− 82	—	—	—	—	—	0,16	—	—	—
Sod 9	SOD-9	+100	—	—	—	0,80	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		+ 95	1,00	1,00	1,00	0,20	—	—	—	—	—

Ce caryotype est morphologiquement semblable à celui décrit pour *C. suaveolens* par MEYLAN & HAUSSER (1974), RIMSA *et al.* (1978) et SLIVKA (1977).

ANALYSE BIOCHIMIQUE

Des 28 loci examinés, 10 se sont révélés monomorphes dans toutes les populations analysées du genre *Crocidura*; les fréquences alléliques trouvées pour les 18 loci polymorphes sont indiquées dans le tableau 2.

Les 28 loci sont exprimés chez les Crocidures de Chypre par 37 électromorphes, dont 7 sont diagnostiques des animaux de l'île vis-à-vis des autres échantillons de *Crocidura* analysés à ce jour. Les électromorphes observés à l'enzyme ADH n'ont pas été détectés parmi les 7 populations témoins. La distance génétique standard (selon la formule de NEI, 1972) vaut 0,061 entre la population de Laxia et celle de Prodhromos; le tableau 3 résume les distances génétiques moyennes calculées entre les Crocidures de Chypre et les autres populations comparées.

TABLEAU 3.

Distances génétiques moyennes, écart-type et étendue, entre les Crocidures de Chypre (populations Ccy-1 et Ccy-2) et les autres espèces comparées. Valeurs calculées selon la formule de NEI *(1972).*

Chypre: Ccy-1 et Ccy-2 vis-à-vis de:	Dist. génét. moyenne	Ecart-type	Etendue
— C. suaveolens: Csu-1, -2 et -3	0,162	0,004	0,158 à 0,169
— C. leucodon: Cle-1 et -2	0,325	0,025	0,293 à 0,352
— C. russula: Cru-1 et -2	0,445	0,049	0,395 à 0,496

DISCUSSION

Morphologiquement, les Crocidures de l'île de Chypre ne diffèrent que peu des populations voisines continentales ou insulaires: *C. suaveolens* de Grèce, *C. zimmermanni* de Crête, *C. gueldenstaedti caneae* de Crête (VESMANIS & VESMANIS 1980); SPITZENBERGER (1978) relève la grande variabilité morphologique de ses échantillons qui entrent dans les limites proposées pour *C. russula gueldenstaedti*/*C. suaveolens*.

Cytologiquement, les animaux de Chypre montrent un caryotype comparable à celui de *C. suaveolens* Pallas, 1811. En reportant sur un graphique les longueurs des différents chromosomes (exprimées en % du stock diploïde) de cinèses provenant d'animaux de Chypre (Prodhromos 2 ind. et Laxia 1 ind.) et de *C. suaveolens* de Suisse et d'Italie (données pers.), nous observons une forte analogie des longueurs chromosomiques dans les différentes populations (fig. 2).

Bien que nous n'ayons pas actuellement les résultats d'une analyse chromosomique mettant en évidence les bandes C ou G, nous estimons que les 3 animaux examinés de Chypre sont comparables, dans leur morphologie chromosomique, aux *C. suaveolens*

telles que présentées par MEYLAN & HAUSSER (1974), RIMSA *et al.* (1978) et SLIVKA (1977).

Biochimiquement, la différenciation génétique entre les populations de Laxia et de Prodhromos est du même ordre de grandeur que celles observées entre populations géographiques chez les autres Soricidae (CATZEFLIS *et al.* 1982; CATZEFLIS, sous presse); dès lors, les Crocidures des montagnes et de la plaine, à Chypre, font partie de la même espèce.

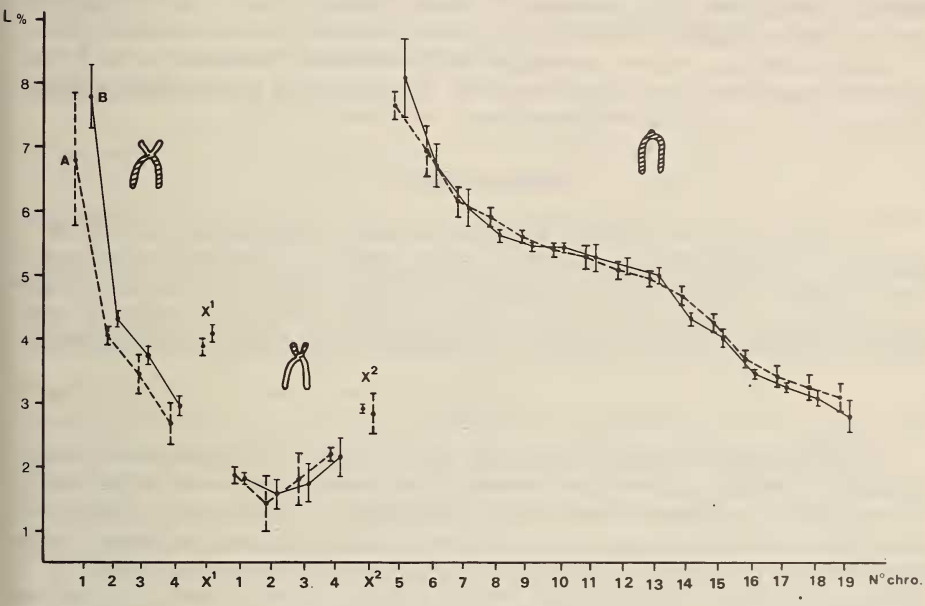

FIG. 2.

Longueurs relatives (L %) et écarts-types des chromosomes numérotés (N° chro.) disposés en ordre de grandeurs décroissantes pour 3 animaux de Chypre (A: trait discontinu) et 3 *C. suaveolens* d'Italie et de Suisse (B: trait continu). Les valeurs moyennes des bras longs (à gauche) et des bras courts (au milieu) des métacentriques, ainsi que celles des acrocentriques (à droite) sont reliées entre elles, séparées par le bras long (X^1) et le bras court (X^2) de l'hétérochromosome X.

Comparées aux autres espèces européennes du genre *Crocidura*, les populations de Chypre se distinguent très nettement de *C. leucodon* et de *C. russula*, montrant une distance génétique importante, comparable à celle calculée entre ces deux espèces (0,382 ± 0,074: CATZEFLIS, sous presse). Vis-à-vis des populations continentales de *C. suaveolens*, les valeurs de la distance génétique observée sont moins grandes (0,162 ± 0,004), révélant une affinité phylétique non discutable. Mais ici le niveau de différenciation biochimique a nettement atteint le statut spécifique si on le compare aux distances génétiques calculées dans d'autres groupes de Mammifères; il est intermédiaire entre celui observé pour des paires de bonnes espèces de Soricidae, soit *Neomys fodiens/N. anomalus* (0,134 ± 0,027: données pers.) et *Sorex araneus/S. minutus* (0,281 ± 0,089; CATZEFLIS *et al.*, 1982).

En conséquence de ces résultats biochimiques, il est indiqué d'utiliser provisoirement le nom *C. cypria* Bate, 1903 pour les échantillons analysés de Chypre, en attendant des données biochimiques et chromosomiques de populations voisines.

Les Crocidures de Chypre représentent-elles une espèce endémique qui a évolué par isolation géographique ou font-elles partie d'un ensemble systématique qui se retrouvera en Asie Mineure et/ou sur d'autres îles? Pour trancher la question, il faudrait analyser des animaux appartenant à ce que Richter (1970) considère comme *C. r. gueldenstaedti* (Pallas, 1811) et aussi des populations continentales du Proche-Orient, citées dans les révisions de Jenkins (1976) et Atallah (1977): Syrie (*C. russula monacha* Thomas, 1906), Liban (*C. r. monacha*, *C. lasia* Thomas, 1906, *C. suaveolens portali* Thomas, 1920), Israël (*C. r. monacha*, *C. s. portali*) et Turquie (*C. r. monacha*, *C. lasia*).

Ainsi, seules des analyses cytologiques et biochimiques d'animaux de ces formes pourraient contribuer à la compréhension de la systématique et des relations phylogénétiques des Crocidurinae méditerranéens.

Remerciements

M. le Professeur Peter Vogel m'a apporté son aide et ses conseils tout au long de ce travail. M. Christian Doerig a contribué, sur le terrain, à la capture des animaux à Chypre, souvent dans des conditions difficiles. Mme Anne-Marie Mehmeti s'est chargée des préparations chromosomiques et M. Roland Gander a effectué une partie des expériences biochimiques. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes chaleureux remerciements.

Résumé

Des musaraignes du genre *Crocidura* de l'île de Chypre ont été analysées cytologiquement et biochimiquement. Leur formule chromosomique, 2N = 40 et NF = 50, est identique à celle observée chez *C. suaveolens* de Suisse et d'Italie. Les variations biochimiques à 28 loci génétiques de 2 populations de Chypre ont été comparées à celles observées chez 7 populations de référence des espèces *C. leucodon*, *C. russula* et *C. suaveolens*. La distance génétique entre les Crocidures de Chypre et les échantillons de *C. leucodon* et *C. russula* est très élevée, respectivement 0,325 et 0,445. Entre les populations continentales de *C. suaveolens* et les animaux de Chypre, la distance génétique calculée vaut 0,162, valeur comparable à celles observées entre d'autres paires d'espèces de Soricidae. En attendant de nouvelles données chromosomiques et biochimiques de populations voisines, nous proposons d'utiliser le nom *C. cypria* Bate, 1903 pour les Crocidures de Chypre.

Zusammenfassung

Crociduren der Insel Zypern wurden zytologisch und biochemisch analysiert. Ihr Karyotyp, 2N = 40, NF = 50, entspricht jenem von *C. suaveolens* schweizerischer und italienischer Herkunft. Für den biochemischen Vergleich wurden die enzymelektrophoretischen Variationen von 28 Genloci berücksichtigt, wobei die Resultate mit Referenzpopulationen von *C. leucodon*, *C. russula* und *C. suaveolens* verglichen wurden. Die genetischen Distanzen zwischen Zypern-Crociduren und *C. leucodon* (D = 0,325) und *C. russula* (D = 0,445) sind sehr gross. Die Distanz zu kontinentalen *C. suaveolens* (D = 0,162) ist bedeutend geringer, jedoch vergleichbar mit beobachteten Werten zwischen andern Spitzmausarten. In Erwartung weiterer zytologischer und biochemischer Analysen von Nachbarpopulationen schlagen wir vor, die Zypern-Spitzmäuse als *C. cypria* Bate 1903 zu bezeichnen.

BIBLIOGRAPHIE

ATALLAH, S. I. 1977. Mammals of the Eastern Mediterranean Region; their ecology, systematics and zoogeographical relationships. *Säugetierk. Mitt.* 25: 241-320.

BATE, D. 1903. The mammals of Cyprus. *Proc. zool. Soc. Lond.* 2: 341-348.

CATZEFLIS, F. sous presse. Relations génétiques entre 3 espèces du genre *Crocidura* (Soricidae, Mammalia) en Europe. *Mammalia.*

CATZEFLIS, F., J. D. GRAF, J. HAUSSER et P. VOGEL. 1982. Comparaison biochimique des Musaraignes du genre *Sorex* en Europe occidentale (Soricidae, Mammalia). *Z. zool. Syst. u. Evolutionsforsch.* 20: 223-233.

CORBET, G. B. 1978. The Mammals of the Palaearctic Region: a taxonomic review. *Brit. Mus. (Nat. Hist.), Corneil Univ. Press, London,* 314 pp.

ELLERMAN, J. R. et T. C. S. MORRISON-SCOTT. 1966. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals 1758 to 1946. *Brit. Mus. (Nat. Hist.), London,* 810 pp.

JENKINS, P. D. 1976. Variation in eurasian shrews of the genus *Crocidura* (Insectivora: Soricidae). *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Zool.* 30: 271-309.

MEYLAN, A. 1967. Formules chromosomiques et polymorphisme robertsonien chez *Blarina brevicauda* (Say) (Mammalia: Insectivora). *Can. J. Zool.* 45: 1119-1127.

MEYLAN, A. et J. HAUSSER. 1974. Position cytotaxonomique de quelques musaraignes du genre *Crocidura* au Tessin (Mammalia, Insectivora). *Revue suisse Zool.* 81: 701-710.

NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.

RICHTER, H. 1970. Zur Taxonomie und Verbreitung der palaearktischen Crociduren (Mammalia, Insectivora, Soricidae). *Zool. Abh. st. Mus. Tierk. Dresden* 31: 293-304.

RIMSA, D., S. ZIVKOVIC et B. PETROV. 1978. Rezultati citogenetickih istrazivanja rovcica (Soricidae, Insectivora, Mammalia) Jugoslavije. *Biosistematika* 4: 209-215.

SLIVKA, S. 1977. A contribution to the knowledge of the karyotype of the bicolor white-toothed shrew (*Crocidura leucodon* Hermann, 1780) and of the lesser white-toothed shrew (*Crocidura suaveolens* Pallas, 1811) in the area of Southwest Slovakia. *Biologica (Bratisl.)* 32: 877-880.

SPITZENBERGER, F. 1978. Die Säugetierfauna Zyperns. Teil I: Insectivora und Rodentia. *Annln naturhist. Mus. Wien* 81: 401-441.

VESMANIS, I. E. et A. VESMANIS. 1980. Bemerkungen zur Morphometrie des P^4 bei einigen Wimperspitzmaus-Arten im Mittelmeerraum (Insectivora: *Crocidura*). *Zool. Beitr.* 26: 1-11.

VESMANIS, I. E. et A. VESMANIS. 1982. Über den Typus *Crocidura russula cypria* Bate, 1903 von der Mittelmeerinsel Zypern. *Zool. Abh. st. Mus. Tierk. Dresden* 38: 133-136.